

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

PCT/KR 99 / 00589 ✓

RO/KR 11.10.1999.

REC'D 26 OCT 1999

WIPO

PCT

대한민국 특허청

KOREAN INDUSTRIAL  
PROPERTY OFFICE

09/806287

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Industrial  
Property Office.

출원번호 : 1998년 특허출원 제41426호  
Application Number

출원년월일 : 1998년 10월 1일  
Date of Application

출원인 : 광주과학기술원  
Applicant(s)

**PRIORITY  
DOCUMENT**

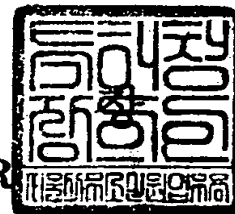
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



1999 년 9 월 29 일

특 허 청

COMMISSIONER



## 특허출원서

【출원번호】 98-041426

【출원일자】 1998/10/01

【국제특허분류】 A61J

【발명의 국문명칭】 미립구를 이용한 레티노익산의 서방형 약물방출 시스템

【발명의 영문명칭】 Controlled Drug Delivery System of Retinoic Acid by Using Biodegradable Microspheres

### 【출원인】

【국문명칭】 광주과학기술원

【영문명칭】 Kwangju Institute of Science and Technology

【대표자】 김호근

【출원인구분】 각급 시험 연구기관

【전화번호】 062-970-2114

【우편번호】 506-712

【주소】 광주광역시 광산구 쌍암동 572번지

【국적】 KR

### 【대리인】

【성명】 황이남

【대리인코드】 S090

【전화번호】 02-567-6562

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 823-42 (예건빌딩 3층)

### 【대리인】

【성명】 박형준

【대리인코드】 F145

【전화번호】 02-567-6562

【우편번호】 135-080

【주소】 서울특별시 강남구 역삼동 823-42 (예건빌딩 3층)

### 【발명자】

【국문성명】 변영로

【영문성명】 BYUN, Young Ro

【주민등록번호】 610227-1051115

【우편번호】 506-302

【주소】 광주광역시 광산구 월계동 금광아파트 103동 1305호

【국적】 KR

### 【발명자】

【국문성명】 김상윤

【영문성명】 KIM, Sang Yoon

【주민등록번호】 570412-1067217

【우편번호】 135-283

【주소】 서울특별시 강남구 대치3동 우성아파트 3동 707호

【국적】 KR

【발명자】

【국문성명】 김선희

【영문성명】 KIM, Sun Hee

【주민등록번호】 590101-2480415

【우편번호】 135-283

【주소】 서울특별시 강남구 대치3동 우성아파트 3동 707호

【국적】 KR

【발명자】

【국문성명】 최용두

【영문성명】 CHOI, Yong Doo

【주민등록번호】 710326-1622423

【우편번호】 502-201

【주소】 광주광역시 서구 농성1동 중흥파크 2동 1508호

【국적】 KR

【발명자】

【국문성명】 한인석

【영문성명】 HAN, In Suk

【주민등록번호】 580401-1030510

【우편번호】 135-080

【주소】 미합중국 유타주 84117 솔트레이크시 이스트 올림픽 리즈 코어 지 105  
1025

【국적】 KR

【발명자】

【국문성명】 이광선

【영문성명】 LEE, Kwang Sun

【주민등록번호】 501127-1057114

【우편번호】 150-010

【주소】 서울특별시 영등포구 여의도동 광장아파트 3동 605호

【국적】 KR

【발명자】

【국문성명】 김철희

【영문성명】 KIM, Chul Hee

【주민등록번호】 570930-1001736

【우편번호】 463-020

【주소】 경기도 성남시 분당구 수내동 양지마을 청구아파트 210동 1050호

【국적】 KR

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다.

대리인

황이남 (인)

대리인

박형준 (인)

【심사청구】 특허법 제60조의 규정에 의하여 위와 같이 출원심사를 청구합니다.

대리인

황이남 (인)

대리인

박형준 (인)

【수신처】 특허청장 귀하

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 0 면 0 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 4 항 237,000 원

【합계】 266,000 원

【첨부서류】 1. 요약서, 명세서(및 도면) 각 1통

2. 출원서 부분, 요약서, 명세서(및 도면)을 포함하는 FD부분 1통

3. 위임장(및 동 번역문)

## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 폴리엘락틱산과 친수성기와 소수성기를 동시에 갖는 양친성 고분자인 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블록 공중합체로 이루어진 미립구에 일정비율의 레티노익산이 혼합된 레티노익산의 약물방출 시스템에 관한 것이다.

본 발명은 폴리엘락틱산과 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블록 공중합체를 일정비율로 혼합하여 미립구를 제조하고 미립구내에 레티노익산을 첨가하여 봉입함으로써 미립구의 분해속도 및 레티노익산의 방출속도를 조절할 수 있다.

본 발명의 목적은 레티노익산을 이용하여 백혈병이나 각종암의 치료에 있어서 경구투여로 인한 레티노익산의 내성유발을 최소화하고 치료효과를 높일 수 있는 서방형 약물방출 시스템을 제공하는데 있다.

### 【대표도】

도 1c

## 【명세서】

### 【발명의 명칭】

미립구를 이용한 레티노익산의 서방형 약물방출 시스템

### 【도면의 간단한 설명】

도 1은 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블럭 공중합체(PLE)의 함량에 따른 미립구의 형태를 나타낸 사진으로서,

(a)는 PLE가 첨가되지 않은 미립구의 형태를 나타낸 사진이다.

(b)는 PLE가 4 wt% 첨가된 미립구의 형태를 나타낸 사진이다.

(c)는 PLE가 8 wt% 첨가된 미립구의 형태를 나타낸 사진이다.

(d)는 PLE가 10 wt% 첨가된 미립구의 형태를 나타낸 사진이다.

도 2는 X-선 광전자 분광 스펙트럼으로 미립구의 표면조성을 분석한 그래프로서,

(a)는 PLE가 8 wt% 첨가된 미립구의 표면조성을 분석한 그래프이다.

(b)는 PLE가 4 wt% 첨가된 미립구의 표면조성을 분석한 그래프이다.

(c)는 PLE 시편의 표면조성을 분석한 그래프이다.

도 3은 레티노익 산(RA)의 함량에 따른 미립구의 형태를 나타낸 사진으로서,

(a)는 RA가 4 wt% 첨가된 미립구의 형태를 나타낸 사진이다.

(b)는 RA가 8 wt% 첨가된 미립구의 형태를 나타낸 사진이다.

도 4는 미립구내 PLE 및 RA의 함량에 따른 약물방출 곡선을 나타낸 그래프로서,

(a)는 RA가 2 wt%일 때 PLE 0 wt%, 4 wt%, 8 wt% 함량에 따른 약물방출 곡선을 나타낸 그래프이다.



(b)는 RA가 4 wt%일 때 PLE 0 wt%, 4 wt%, 8 wt% 함량에 따른 약물방출 곡선을 나타낸 그래프이다.

(c)는 RA가 8 wt%시 PLE 4 wt%, 8 wt% 함량에 따른 약물방출 곡선을 나타낸 그래프이다.

도 5는 레티노익 산(RA)이 함유된 미립구를 이용하여 종양 성장의 억제를 나타낸 사진으로서,

(a)는 생쥐에 종양세포를 주사한 후 레티노익 산을 함유하지 않은 미립구를 투여하고 5주 뒤에 생쥐의 상태를 나타낸 사진이다.

(b)는 생쥐에 종양세포를 주사한 후 레티노익 산이 함유된 미립구(PLE 8 wt%/RA 4 wt%)를 투여하고 5주 뒤에 생쥐의 상태를 나타낸 사진이다.

#### **【발명의 상세한 설명】**

#### **【발명의 목적】**

#### **【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

본 발명은 폴리엘락틱산(Poly-L-lactic acid, 이하 PLLA라 한다.)과 친수성기와 소수성기를 동시에 갖는 양친성 고분자로서 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜(Polyethylene glycol, 이하 PEG라 한다.) 블록 공중합체(PLLA-PEG, 이하 PLE라 한다.)로 이루어진 미립구에 일정비율의 레티노익산이 혼합된 레티노익산(Retinoic acid, 이하 RA라 한다.)의 서방형 약물방출 시스템에 관한 것이다.

레티노익산은 세포의 분화와 성장을 조절하는 중요한 역할을 하고있는 것으로 알려져 있으며, 여러 상피조직(epithelial tissue)에서의 발암성(carcinogenesis)을 억

제하는 것으로 보고되고 있다. 특히, 두경부암, 피부암, 폐암, 유방암, 경부암(cervical cancer), 방광암 등의 예방 및 치료에 우수한 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 급성 전골수구성 백혈병(acute promyelocytic leukemia)을 갖고 있는 환자들에 있어서 효능을 보이고 있다.[Blood 76, 1704-1709 (1990), Blood 78, 1413-1419 (1991), The New England Journal of Medicine 324, 1385-1393 (1991)]. 그러나, 레티노익산의 지속적인 반복 투여시에는 약물의 혈중농도가 치료 초기에 비해 급격히 감소하며[Blood 79, 299-303 (1992)] 단기간 내에 병이 다시 재발[Cancer Research 52, 2138-2142 (1992)]하게 된다. 이는 경구투여한 레티노익산에 의해 레티노익산을 대사시키는 시토크롬(cytochrome) P450 효소가 유발(induction)되기 때문이다. 소량의 레티노익산을 투여한 경우에도 시토크롬(cytochrome) P450가 유발되고, 반복 투여시에는 이 효소에 의한 대사가 가속화되어 결국에는 효과적인 혈중농도를 유지할 수 없게 되는 것으로 알려져 있다. 레티노익산의 농도를 높이는 경우에는 심각한 독성효과가 나타나게되고 심한 경우에는 호흡곤란, 발작, 혼수상태를 일으켜 사망할 수도 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 종래에는 리포솜(liposome)[Leukemia Research 18, 587-596 (1994)]이나 나노입자(nanoparticle)[International Journal of Pharmaceutics 131, 191-200 (1996)]을 이용한 레티노익산의 약물전달시스템이 시도되었으나, 이 경우 약물의 방출시간이 매우 짧은 단점이 있다.

한편 락틱산과 글리콜릭산의 공중합체(poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA)로 제조된 미립구 내에 레티노익산을 함유시켜 40일 동안 레티노익산을 방출시킨 예가 있

으나, 이 경우 증식성 유리체 망막병(proliferative vitreoretinopathy)의 치료에 한정되어 있다[Investigative Ophthalmology & Visual Science 34, 2743-2751 (1993)].

#### 【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

본 발명은 상기와 같은 문제점들을 해결하기 위하여 폴리엘락틱산(PLLA)과 친수성기와 소수성기를 동시에 갖고있는 양친성 고분자인 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블록 공중합체(PLE)로 이루어진 미립구를 제조하고 이 미립구에 레티노익산을 봉입하여 레티노익산이 오랜 시간 동안 지속적으로 방출될 수 있는 약물전달 시스템을 개발함으로써 레티노익산의 투여에 의한 내성유발을 줄이고 백혈병 및 각종 암에 대한 예방 및 치료에 이용하고자 한다.

#### 【발명의 구성 및 작용】

본 발명은 상기에서 언급한 문제점들을 해결하기 위해 레티노익산을 생분해성 고분자인 폴리엘락틱산(PLLA)과 양친성 고분자인 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블록 공중합체(PLE)로 이루어진 미립구에 봉입시킨 서방형 약물방출 시스템을 개발하고자 한다.

미립구의 제조에 사용될 수 있는 물질로서는 아래의 표 1에 나열된 생분해성 고분자들이 사용될 수 있는데, 본 발명에서는 미립구의 지지체로서 생체적합성 및 생분해성 특성을 갖고있는 폴리엘락틱산(PLLA)을 사용한다.

표 1. 생분해성 고분자

고분자	고분자의 계통	예
생분해성 합성 고분자	Polyesters	Poly(lactic acid), Poly(glycolic acid), Poly(lactic-co-glycolic acid), Polyhydroxybutyrate, poly(valerolactone), Poly( $\epsilon$ -caprolactone)
	Polyanhydrides	Poly[bis(p-carboxyphenoxy)propane-co-sebacic acid], Poly(fatty acid dimer-co-sebacic acid)
	Polyphosphazenes	Aryloxyphosphazene polymer, Amino acid ester system
	Poly(ortho esters)	
생분해성 천연 고분자	Polysaccharides	Cellulose, Starch, Chondroitin sulfate
	Proteins	Albumin, Collagen

또한, 고분자 계면활성제(polymeric surfactant)를 일정 비율로 혼합하여 미립구를 제조함으로써 미립구의 분해속도 및 약물방출속도를 조절할 수 있다. 고분자 계면활성제로서는 소수성과 친수성을 동시에 가지고 있는 블록공중합체가 사용될 수 있으며, 본 발명에서는 고분자 계면활성제로서 폴리 락틱산-폴리에틸렌글리콜 블록공중합체(PLE)를 사용하여 약물전달 시스템을 제조한다.

이하 본 발명을 다음의 실시예와 시험예에 의하여 더욱 자세히 설명하고자한다. 그러나 이들은 본 발명의 이해를 쉽게 하기 위해 제공되는 것으로서 본 발명의 기술적 범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

#### 실시예 1. 고분자 계면활성제(Polymeric surfactant)의 합성

고분자 계면활성제로 사용된 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블럭 공중합체(PLE)는 모노-메톡시(mono-methoxy) 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 개시제로 하고 엘-락티드(L-lactide)를 개환중합시켜 합성하였다. 엘-락티드는 에틸 아세테이트에서 2번 재결정하였으며, 모노 메톡시 폴리에틸렌글리콜은 60℃에서 8시간 동안 감압 건조 후 사용하였다.

먼저 교반기, 질소 주입구, 콘덴서가 장착된 3구 플라스크에 엘-락티드 6.507g, 모노 메톡시 폴리에틸렌글리콜(분자량 5,000) 2g, 톨루엔 45mL를 넣고 70℃로 가열하여 두 반응물이 톨루엔에 완전히 용해되도록 하였다. 계속하여 촉매인 스테너스 옥토에이트(stannous octoate) 65mg을 플라스크에 첨가한후, 110℃에서 용매인 톨루엔을 환류시키면서 24시간 동안 반응시킨다.

생성된 물질은 감압하에서 용매인 톨루엔을 제거하고 클로로포름에 녹인 후, 아세톤/디에틸 에테르를 1:4의 부피분율(v/v)로 혼합된 혼합액 및 메탄올/헥산을 4:1의 부피분율(v/v)로 혼합된 혼합액에 각각 침전시켜 정제하여 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블럭 공중합체를 얻었으며 최종 생성물인 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블럭 공중합체를 분석한 결과는 다음과 같다.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, 클로로포름( $\text{CDCl}_3$ ))

$\delta$  1.58 (PLLA의  $-\text{CH}_3$ ), 5.19 (PLLA의  $-\text{CH}$ ), 3.65 (PEG의  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ )

FT-IR

$1758\text{cm}^{-1}$  (CO),  $1300-1000\text{cm}^{-1}$  (COO),  $2882\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$ )

DSC(Differential scanning calorimetry)

169°C (PLLA  $T_m$ ) , 18~40°C (PLLA의  $T_g$  및 PEG의  $T_m$ )

## 실시예 2. 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블록 공중합체(PLE)를 함유한 미립구의 제조

미립구는 폴리엘락틱산(PLLA)과 폴리엘락틱산-폴리에틸렌글리콜 블록 공중합체(PLE)로 소수성 약물의 제조에 사용된 O/W(oil-in-water) 에멀전 용매 증류법(solvent evaporation method)에 의하여 제조하였으며, 실시예 1에서 합성한 고분자 계면활성제인 PLE의 미립구내 최적함량을 결정하고자, 미립구내의 PLE의 함량에 따른 미립구의 형태변화를 관찰하였다.

먼저, 폴리엘락틱산 250 mg과 PLE(0, 2, 4, 6, 8, 10, 20 및 30 wt%)를 유기용매인 디클로로 메탄(Dicloromethane) 5 mL에 녹인 후, 이 유기용액에 2 w/v% 폴리비닐 알콜 수용액 40 mL에 주사바늘을 통하여 주입하면서 호모제나이저(homogenizer)를 이용하여 rpm 24,000으로 격렬히 교반하면서 동질화(Homogenization) 반응을 10분 동안 실시한 후, 40°C에서 2시간 동안 반응시키면서 유기용매인 디클로로 메탄을 증발시켰다.

폴리엘락틱산의 응고에 의해 형성된 미립구는 증류수로 3회 세척하여 폴리비닐 알콜을 제거하고, 원심분리를 통하여 수집한 후 24시간 동안 동결 건조하였다.

## 실시예 3. 레티노익산의 봉입

미립구내 레티노익산을 봉입하기 위한 작업은 빛에 의해서 레티노익산이 분해되는 것을 방지하기 위하여 암실에서 모든 절차를 진행하였다. 먼저, 폴리엘락틱산 250 mg, PLE 0, 4, 8 wt% 및 레티노익산 2, 4, 8 wt%을 유기용매인 디클로로 메탄 5 mL

에 녹인 후, 이 유기용액에 2 w/v% 폴리비닐 알콜 수용액 40 ml에 주사바늘을 통하여 주입하면서 호모게나이저(homogenizer)를 이용하여 rpm 24,000으로 격렬히 교반하였다. 이하 실시예 2에서 기술한 절차와 동일하게 실시하였다.

#### 시험예 1. 미립구의 특성 분석

실시예 2에서 제조한 미립구 각각의 형태를 SEM으로 관찰하였으며, 분산용액에서의 분산도를 관찰하기 위하여 pH 7.4, I(ionic strength) 0.15인 완충 PBS 수용액(phosphate buffer solution)에서 미립구의 분산 정도를 관찰하였으며 PLE의 함량에 따른 미립구의 형태를 도 1의 (a)(b)(c)(d)에 나타냈다. PLE의 함량이 증가함에 따라 미립구의 표면은 불규칙하게 되지만 PLE 함량 8 wt%까지는 매끈한 표면을 가지는 미립구를 얻을 수 있었다. PBS 용액에서의 분산실험에서는 PLE를 2% 이상 함유한 미립구의 경우에는 트윈(tween) 20과 같은 계면활성제를 수용액에 따로 첨가하지 않아도 PBS에 분산이 잘 되었으며, PLE의 함량이 증가할수록 분산이 더욱 용이하였다.

미립구 표면에서의 조성은 도 2에서 나타낸 것과 같이 X-선 광전자 분광법을 이용하여 분석하였다. 285.5 eV, 287.5 eV 및 289.6 eV에서의 피크는 각각 PLLA의 -CH-, -CO- 및 -CO<sub>2</sub>-의 결합에너지(binding energy)에 해당하며 286.55 eV에서의 피크는 폴리에틸렌글리콜(PEG)의 C-C-O-에 해당한다. 도 2에서 볼 수 있듯이 PEG 체인에 기인한 286.55 eV 피크의 상대적인 강도가 미립구내 PLE의 함량이 높아짐에 따라 증가함을 볼 수 있으며, 이것은 PLE의 함량이 증가함에 따라 미립구 표면에서 PEG 체인의 밀도가 증가함을 의미하고 PBS 용액에서의 분산도가 PLE의 함량이 증가

함에 따라 향상되는 것은 이러한 이유 때문이다.

SEM 관찰과 PBS 용액에서의 분산실험으로부터 미립구 제조에 적당한 PLE의 함량은 2~8 wt% 사이인 것으로 알 수 있다.

### 시험예 2. 레티노익산의 함량에 따른 미립구의 크기 측정

레티노익산의 함량에 따른 미립구의 형태를 SEM으로 관찰한 결과를 도 3의 (a)(b)에 나타내었다. 도 3(a)처럼 레티노익산의 함량이 4 wt%까지는 전체적으로 미립구가 둥근모양의 형태를 유지하고 있지만 도 3(b)처럼 레티노익산의 함량이 8 wt%인 경우에는 일부 불규칙한 형태의 미립구를 얻었다.

레티노익산의 미립구내 봉입률은 약물이 함유된 미립구를 디클로로 메탄에 녹인 후, 365 nm에서 자외선(ultraviolet, UV) 흡광도를 측정하고 검량선과 비교함으로써 결정하였다. 레티노익산의 미립구내 봉입율은 PLE나 레티노익 산의 함량에 따라 크게 변하지 않았으며, 90% 이상의 값을 나타내었다.

미립구의 크기 및 크기분포는 F-1000 미립구 분석기(Universal Fractionator)를 이용하여 측정하였는데 제조한 미립구의 크기는 PLE나 레티노익산의 함량에 따라 크게 차이가 나지 않았으며, 평균적으로  $5\mu\text{m}$ 의 크기를 갖고 2~ $10\mu\text{m}$ 사이의 분포를 나타내었다.

### 시험예 3. 레티노익산의 방출 실험

레티노익산을 함유한 미립구 10 mg을 1.5 ml 마이크로 튜브에 넣은 후, 0.5 ml의 PBS 용액을 첨가하고 잘 분산시킨다. 분산된 용액을  $6\times 1.6\text{cm}$ 의 셀룰로오스 아세테이트 멤브레인에 넣고 멤브레인의 양쪽을 봉합한다. 그 다음 멤브레인을 36 l의



PBS 수용액이 들어있는 수조(water bath)에 담그고 20 rpm의 속도로 교반한다. 수조내의 PBS 수용액은 9일과 30일째에 교체하였으며 측정주기에 멤브레인을 수조에서 꺼내서 세척 및 건조 후 미립구를 디클로로메탄에 용해시켜 자외선(UV)으로 미립구내의 잔여 레티노익산의 양을 측정하였다. 이 모든 절차는 빛에 민감한 레티노익산의 특성을 고려하여 암실에서 행하였다.

미립구내의 PLE의 함량과 레티노익산의 함량을 다르게 하여 제조한 각각의 미립구들에 대한 약물방출 실험결과를 도 4의 (a)(b)(c)에 나타내었다. 도 4의 (a)(b)(c)에서처럼 레티노익산을 미립구내에 봉입시킨 경우에는 미립구로부터 레티노익산이 35일 이상 지속적으로 방출되고 있음을 알 수 있다. 또한 미립구로부터의 레티노익산의 방출속도는 PLE와 레티노익산의 함량에 따라서 조절이 되고, 특히 PLE와 레티노익산의 함량이 각각 4 wt% 이상 함유된 경우에는 약물방출 곡선이 약물방출 속도가 거의 일정한 양상을 보이는 0차 약물방출에 가까운 형태를 보였다.

#### 시험예 4. 동물 실험

레티노익산을 함유한 미립구를 투여한 경우 종양 성장의 억제효과를 관찰하기 위하여 생후 1.5~2개월의 체중 15~31g인 실험용 생쥐에 두경부암 환자에게서 채취하여 배양시킨 종양세포를  $2 \times 10^6$  cell/ml의 농도로 하여 생쥐의 등 양쪽 부위에 각기 0.5 ml씩 피하주사로 주입하였다. 그 다음 생쥐를 2그룹으로 나누고, 첫 번째 그룹은 레티노익산을 함유하지 않은 미립구를, 두 번째 그룹은 레티노익산을 함유한 미립구(PLE 8 wt%/ RA 4 wt%)를 100 mg/kg 용량으로 투여하여 일주일 간격으로 종양의 크기를 관찰하였다. 한편 미립구는 생쥐의 복강에 주입되기 전에 에틸렌 옥사이

드 가스로 살균을 하였다.

생쥐에 종양세포와 미립구를 주입하고 5주 후에 종양성장의 차이를 나타내는 사진을 도 5의 (a)(b)에 나타내었다. 레티노익산을 함유하지 않은 미립구를 주입한 도 5(a)에는 종양세포가 평균  $1700\text{ mm}^3$ 의 크기까지 종양이 성장하였지만, 레티노익산을 함유한 미립구를 투여한 도 5(b)에는  $300\text{ mm}^3$  정도의 종양이 성장하였다. 이 값은 도 5(a) 경우의 18% 정도에 해당하는 값으로 레티노익산을 함유한 미립구를 사용함으로써 종양의 성장이 현저히 억제되고 있음을 알 수 있다.

#### 【발명의 효과】

본 발명은 레티노익산이 적은 양에 의해서도 레티노익산을 대사시키는 시토크롬 P450을 유발시키므로 반복 투여시에 레티노익산이 급속히 극성 대사물(polar metabolite)로 분해되고 효과적인 혈액농도를 유지할 수 없다는 문제점을 해결하기 위해서 레티노익산을 미립구내에 봉입시킴으로써 5주 이상 레티노익산이 미립구로부터 서서히 그리고 지속적으로 방출이 될 수 있도록 하였다. 특히, 미립구내의 PLE와 레티노익산의 함량을 조절함으로써 약물의 방출속도를 조절하였으며, 레티노익산과 PLE의 함량이 각각 4 wt% 이상인 경우에 유사 0-차 약물방출 속도를 얻을 수 있었다.

본 발명에서 개발된 미립구를 이용한 서방형 약물방출 레티노익산은 레티노익산의 내성 유발을 최소화하며 레티노익산의 지속적인 방출을 요하는 각종 치료에 효과적으로 이용될 수 있다.

#### 【특허청구범위】

##### 【청구항 1】

생분해성 고분자와 친수성기 및 소수성기를 동시에 갖고있는 양친성 고분자가 혼합되어 이루어진 미립구에 레티노익산을 일정비율로 혼합하여 레티노익산의 방출속도 및 미립구의 분해속도를 조절함을 특징으로 하는 미립구를 이용한 레티노익산의 서방형 약물방출 시스템.

##### 【청구항 2】

제 1항에 있어서, 레티노익산은 트랜스 구조의 레티노익산(all-trans-retinoic acid), 13-시스 레티노익산(13-cis-retinoic acid) 또는 이들의 이성질체임을 특징으로 하는 미립구를 이용한 레티노익산의 서방형 약물방출 시스템.

##### 【청구항 3】

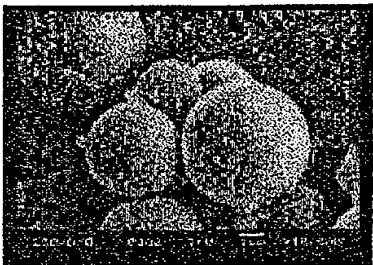
제 1항에 있어서, 생분해성 고분자와 친수성기 및 소수성기를 동시에 갖고있는 양친성 고분자는 0~100%로 혼합되어 레티노익산의 방출속도 및 미립구의 분해속도를 조절함을 특징으로 하는 미립구를 이용한 레티노익산의 서방형 약물방출 시스템.

##### 【청구항 4】

제 1항에 있어서, 레티노익산을 미립구에 혼합하는 비율은 미립구 무게에 대하여 0.1~50 wt% 임을 특징으로 하는 미립구를 이용한 레티노익산의 서방형 약물방출 시스템.

【도면】

【도 1a】



PLE = 0 wt%

【도 1b】



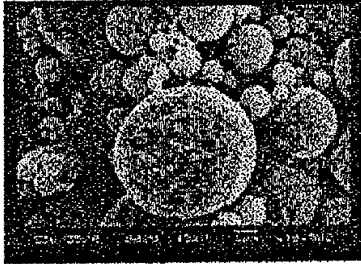
PLE = 4 wt%

【도 1c】



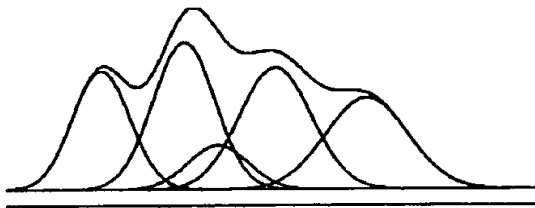
PLE = 8 wt%

【도 1d】

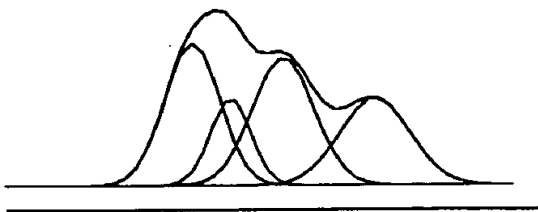


PLE = 10 wt%

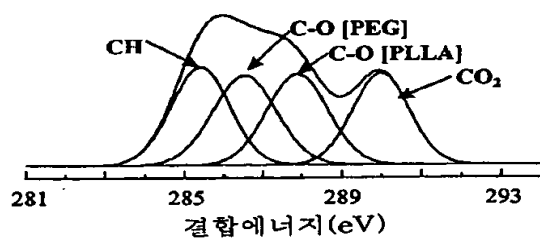
【도 2a】



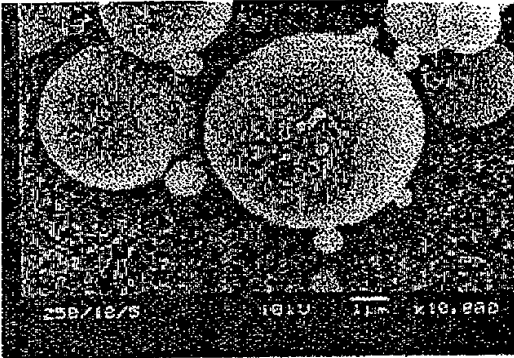
【도 2b】



【도 2c】

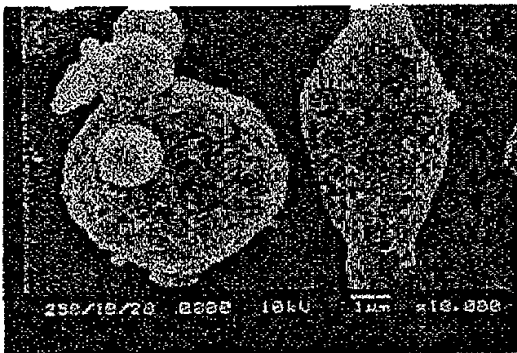


【도 3a】



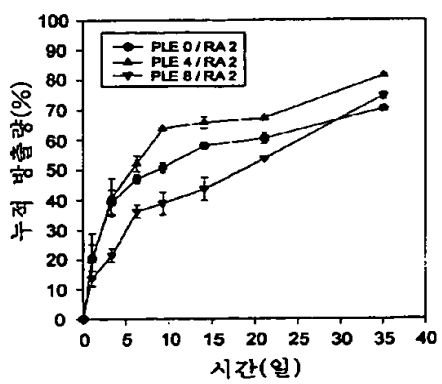
RA = 4 wt%

【도 3b】

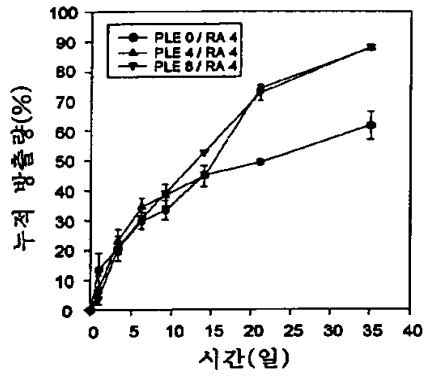


RA = 8 wt%

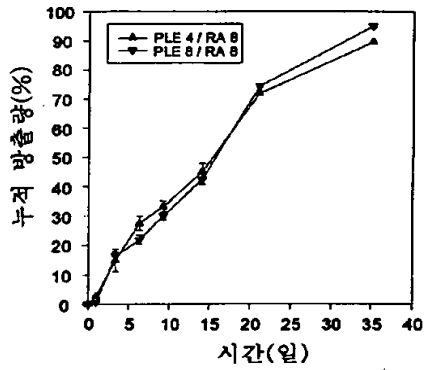
【도 4a】



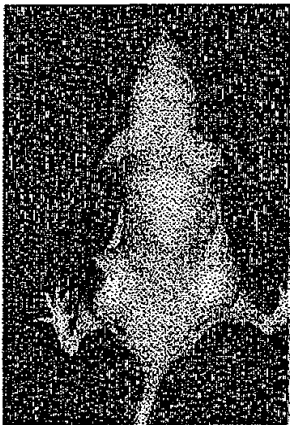
【도 4b】



【도 4c】



【도 5a】



【도 5b】

